



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

NATHALIA LOPES MANGANARO

**EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL DE FRENTISTAS AO BENZENO E ALTERAÇÃO
MUTAGÊNICA EM CÉLULAS BUCAIS - REVISÃO SISTEMÁTICA**

Presidente Prudente - SP
2022



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

NATHALIA LOPES MANGANARO

**EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL DE FRENTISTAS AO BENZENO E ALTERAÇÃO
MUTAGÊNICA EM CÉLULAS BUCAIS - REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Mestrado em Odontologia.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Rosana Leal do Prado

Presidente Prudente - SP
2022

Catlogação na Publicação

D74
M277e

Manganaro, Nathália Lopes

Exposição ocupacional de frentistas ao benzeno e alteração mutagênica em células bucais - revisão sistemática / Nathalia Lopes Manganaro ; orientadora Rosana Leal do Prado. – Presidente Prudente, 2022.

34 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente
Prudente, SP, 2022.

Bibliografia.

1. Genotoxicidade. 2. Benzeno. 3. Gasolina. 4.
Exposição ocupacional. 5. Dano ao DNA. I. Prado,
Rosana Leal do, orient. I. Título.

Bibliotecária: Jakeline Margaret de Queiroz Ortega - CRB 8/6246

NATHALIA LOPES MANGANARO

**EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL DE FRENTISTAS AO BENZENO E ALTERAÇÃO
MUTAGÊNICA EM CÉLULAS BUCAIS - REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Mestrado em Odontologia.

Presidente Prudente, 31 de março de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Rosana Leal do Prado
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof.^a Dr.^a Eliane Cristina Gava Pizi
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof.^a Dr.^a Mariana Machado Teixeira de Moraes Costa
Unicesumar
Curitiba - PR

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho para ti meu Deus, autor do meu destino, sem ti nada seria possível e Nossa Senhora Aparecida a quem confio minha jornada. Dedico também, a minha família e especialmente aos meus avós Abélio Lopes e Eva Mariano Lopes *“in memorian”*, responsáveis pela minha criação e por todos os ensinamentos de minha vida. Mesmo diante da simplicidade, com muito esforço e trabalho me deixaram o que tenho de mais valioso na vida, minha fé e meus valores éticos. Jamais esquecerei suas palavras, minha avó, dizendo com orgulho que eu “estudava para um dia ser professora, a profissão mais nobre, a mãe de todas as outras profissões”. Como eu queria partilhar esse momento tão sonhado com vossas senhorias, infelizmente, o destino não permitiu, mas sei que onde estiverem, sempre zelam por mim.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por dar sabedoria e serenidade nesta jornada, mostrando sempre o caminho certo a seguir, tudo por ele e para ele.

À Nossa Senhora Aparecida, por iluminar o meu caminho, concedendo forças e fé para sempre prosseguir.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Rosana Leal do Prado e a Prof. Dr^ª Juliane Avansini Marsicano.

“Um bom professor ensina, mas um grande professor muda a vida dos seus alunos para sempre”. (autor desconhecido)

Forneceram ensinamentos valiosos e essenciais nesta jornada com muita perseverança e dedicação, sempre serão lembradas com muito carinho e gratidão.

À todos os professores do Curso de Mestrado em Odontologia da Universidade do Oeste Paulista, pela dedicação com nossa formação e aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES por possibilitar a realização deste curso.

Aos colegas de turma, pelos momentos inesquecíveis desta jornada.

À Faculdade de Odontologia da Universidade do Oeste Paulista, pela oportunidade de desfrutarmos de laboratórios, clínica odontológica e instalações para a realização de nossa aprendizagem.

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!
Não se apavore, nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus,
estará com você por onde você andar”.*
(Josué 1:9)

RESUMO

Exposição ocupacional de frentistas ao benzeno e alteração mutagênica em células bucais - revisão sistemática

Os frentistas de postos de revenda de combustível são expostos diretamente à inalação de subprodutos da evaporação da gasolina, como o benzeno, que é prejudicial à saúde. Esta revisão sistemática objetivou investigar a relação entre a exposição ocupacional ao benzeno e a presença de alterações mutagênicas em células bucais em frentistas. O PICO foi definido como P= frentistas, I= exposição ao benzeno, C= população sem exposição crônica ao benzeno, O= alteração mutagênica. A estratégia de busca foi estabelecida combinando os descritores: DNA damage, micronucleus, genotoxicity, mutagenicity tests, benzene, station attendants, gasoline e gas station. A busca foi realizada nas bases de dados: PubMed/MEDLINE, Scielo, Scopus, Cochrane Library, Lilacs, Web of Science e Embase. Os critérios de inclusão basearam-se em estudos que realizaram o teste de micronúcleo de células bucais (BMn) em frentistas e grupo controle sem exposição ao benzeno, artigos de revisão de literatura, casos clínicos e sem dados descritivos foram considerados critérios de exclusão. Para a análise de possíveis vieses dos estudos, utilizou-se as escalas de Newcastle-Ottawa e Axis. Foram encontrados 13.663 estudos, sendo que apenas dezesseis foram selecionados por atenderem aos critérios de inclusão e exclusão. Os estudos sugeriram a presença de alterações mutagênicas com aumento da frequência de micronúcleos (Mn), células binucleadas (BN), cariorrexe (CX), cariólise (CL), picnose (PN), botão nuclear (BTN) e cromatina condensada (CCD) em frentistas de postos de gasolina com 3 meses a 30 anos de exposição crônica ao benzeno com alterações mais expressivas em frentistas com >5 anos de tempo de trabalho. O aumento de alterações mutagênicas em células bucais de frentistas pode indicar o risco de genotoxicidade decorrentes da exposição ocupacional.

Palavras-chave: genotoxicidade; benzeno; gasolina; exposição ocupacional; dano ao DNA.

ABSTRACT

Exposure of agents to benzene and mutagenic alteration of oral cells - systematic review

Gas station attendants are directly exposed to the inhalation of by-products of gasoline evaporation, such as benzene, which is harmful to health. This systematic review aimed to investigate the relationship between occupational exposure to benzene and the presence of mutagenic alterations in oral cells in gas station attendants. PICO was defined as P= gas station attendants, I= exposure to benzene, C= population without chronic exposure to benzene, O= mutagenic alteration. The search strategy was established by combining the descriptors: DNA damage, micronucleus, genotoxicity, mutagenicity tests, benzene, station attendants, gasoline and gas station. The search was performed in the following databases: PubMed/MEDLINE, Scielo, Scopus, Cochrane Library, Lilacs, Web of Science and Embase. The inclusion criteria were based on studies that performed the oral cell micronucleus test (BMn) in gas station attendants and a control group without exposure to benzene, literature review articles, clinical cases and no descriptive data were considered exclusion criteria. For the analysis of possible biases in the studies, the Newcastle-Ottawa and Axis scales were used. A total of 13,663 studies were found, of which only sixteen were selected because they met the inclusion and exclusion criteria. The studies suggested the presence of mutagenic alterations with increased frequency of micronuclei (Mn), binucleated cells (BN), karyorrhexis (KX), karyolysis (KY), pyknosis (PK), nuclear button (NB) and condensed chromatin (CC) in gas station attendants with 3 months to 30 years of chronic exposure to benzene, with more expressive alterations in gas station attendants with >5 years of working time. The increase in mutagenic alterations in oral cells of gas station attendants may indicate the risk of genotoxicity resulting from occupational exposure.

Keywords: genotoxicity; benzene; gasoline; occupational exposure; DNA damage

LISTA DE SIGLAS

AXIS	– Appraisal Tool for Cross-sectional Studies
BMn	– Teste de micronúcleos em células bucais
BN	– Célula binucleada
BTN	– Célula botão nuclear
CCD	– Célula cromatina condensada
CCOHS	– Canadian Centre for occupational Health and Safety
CL	– Célula cariólise
CX	– Célula cariorrexe
EPI	– Equipamento de proteção individual
Mn	– Micronúcleos
<i>NIOSH</i>	– National Institute for Occupational Safety and Health
<i>NOS</i>	– New Castle- Ottawa Quality Assessment Scale
PN	– Célula picnose

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma das etapas de seleção dos estudos científicos.....18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Delineamento dos estudos e risco de viés baseado nas escalas NOS e AXIS.....	21
Tabela 2 -	Frequência dos tipos de alterações mutagênicas de acordo com os grupos avaliados (frentista e grupo controle).....	22
Tabela 3 -	Frequência de micronúcleo em grupos fumantes expostos e não expostos ao benzeno.....	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	METODOLOGIA.....	15
3	RESULTADOS.....	18
4	DISCUSSÃO.....	25
5	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS.....	29

REFERÊNCIAS

1. United Nations Environment Programme. Global chemicals outlook: towards sound management of chemicals. [Nairobi, Kenya]: United Nations Environment Programme; 2013.
2. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans- Benzene: v.120. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2018.
3. Ruchirawat M, Navasumrit P, Settachan D. Exposure to benzene in various susceptible populations: Co-exposures to 1,3-butadiene and PAHs and implications for carcinogenic risk. *Chem Biol Interact.* 2010; 184(1-2): 67–76. doi: 10.1016/j.cbi.2009.12.026.
4. Shen Y, Shen HM, Shi CY, Ong CN. Benzene metabolites enhance reactive oxygen species generation in HL60 human leukemia cells. *Hum Exp Toxicol.* 1996; 15(5):422–7. doi: 10.1177/096032719601500510
5. WHO. Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace. World Health Organization. Geneva. Relevance of occupational skin exposure. *Ann. Occup. Hygiene.* 1996 37: 673-85.
6. Ahmadi Z, Moradabadi A, Abdollahdokht D, Mehrabani M, Nematollahi MH. Association of environmental exposure with hematological and oxidative stress alteration in gasoline station attendants. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019; 26(20):20411-7. doi: 10.1007/s11356-019-05412-7.
7. Brum EDS, da Silva LM, Teixeira TP, Moreira LDR, Kober H, Lavall MC et al. DNA damage and inflammatory response in workers exposed to fuels and paints. *Arch Environ Occup Health.* 2021; 76(3):152-62. doi: 10.1080/19338244.2020.1783502
8. Federação Nacional dos Empregados em Posto de Serviços de Combustíveis e Derivados de Petróleo (Fenepospetro). Brasil; 2021. <https://fenepospetro.org.br/historico>
9. Tribunal Superior de Trabalho (Brasil). Súmula nº39. Os empregados que operam bomba de gasolina têm direito ao adicional de periculosidade; 2003.

10. Angelini S, Maffei F, Bermejo JL, Ravegnini G, L'insalata D, Cantelli-Forti G, Violante FS, Hrelia P. Environmental exposure to benzene, micronucleus formation and polymorphisms in DNA-repair genes: a pilot study. *Mutat Res.* 2012; 743(1-2):99-104. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.10.018.
11. Li J, Xing X, Zhang X, Liang B, He Z, Gao C, et al. Enhanced H3K4me3 modifications are involved in the transactivation of DNA damage responsive genes in workers exposed to low-level benzene. *Environmental Pollution.* 2018; 234:127-35. doi: 10.1016/j.envpol.2017.11.042.
12. Celik A, Cavaş T, Ergene-Gözükara S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Mutagenesis.* 2003; 18(5):417-21. doi: 10.1093/mutage/geg022.
13. Figueiredo VO, de Carvalho LVB, Borges RM, Costa-Amaral IC, Santos MVC, Rosa ACS et al. Avaliação da exposição a BTEX em postos de revenda de combustíveis no Rio de Janeiro, Brasil, e os riscos à saúde do trabalhador. *Cad. Saúde Pública* 2021; 37(11):1-14. doi: 10.1590/0102-311X00351520
14. WHO. Preventing Disease Through Healthy environments: Exposure to Benzene: A Major Public Health Concern. Department of Public Health, Environmental and Social Determinants of Health. Geneva; 2019.
15. Silva BR, Cândido WP, Silva MMRD, Castro ES, Meneguelli M, Schons SV, Silva FC. Avaliação da exposição ocupacional de trabalhadores frentistas de postos de combustíveis utilizando como biomarcadores celulares frequência de micronúcleos e alterações citogenéticas. *Rev Ibero-Americana de Ciências ambientais.* 2021; 12(1):153-60. doi: 10.6008/CBPC2179-6858.2021.001.0013
16. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, Listl et al. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet* 2019; 394(10194):249-60. doi: 10.1016/S0140-6736(19)33015-6
17. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Brasília: INCA; 2021. <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-boca>
18. Sorahan T, Kinlen LJ, Doll R. Cancer risks in a historical UK cohort of benzene exposed workers. *Occup Environ Med.* 2005; 62(4): 231–6. doi: 10.1136/oem.2004.015628.

19. Centers for disease control and prevention- Appendix E - OSHA Respirator Requirements for Selected Chemical; 2018. Department of health & human services U.S. A. <https://www.cdc.gov/niosh/npg/nengapdx.html>
20. Canadian Centre for Occupational Health and Safety (CCOHS). Benzene; 2019. https://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/chem_profiles/benzene.html
21. Centers for Disease Control and Prevention- Appendix E – Facts about Benzene. Department of health & human services U.S.A; 2018. <https://emergency.cdc.gov/agent/benzene/basics/facts.asp>
22. Moher D, Liberati A, Tetzlaff DG. The PRISMA group. Preferred reporting items for systematic review and meta analyses: the PRISMA statement. *Systematic reviews*. PLoS Med. 2009; 6(7):e1000097. doi: 10.1371/journal.pmed.1000097.
23. National Institute for Health Research. Prospero international prospective register of systematic reviews. <https://www.crd.york.ac.uk/prospero/>
24. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S. et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2009; 4(6):825-37. doi: 10.1038/nprot.2009.53.
25. Stich HF, San RH, Rosin MP. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann N Y Acad Sci* .1983; 407:93-105. doi: 10.1111/j.1749-6632.1983.tb47816.x.
26. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development. *Mutat Res*. 1992; 271(1):69-77.
27. Thomas P, Harvey S, Gruner T, Fenech M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutat Res*. 2008; 638(1-2):37–47. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.08.012.
28. Souto R, Borges FR, Cunha DMC, Vilanova-Costa CAST, Cruz AD. O teste de micronúcleo como ferramenta qualitativa de dano genético: Aspectos citotécnicos. *Estudos Vida e Saúde*. 2010; 37(2):297-307. doi: 10.18224/est.v37i2.1481

29. Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Thomas P, Fenech M. The HUMN xl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cy-tome assay—an update and expanded photogallery. *Mutat Res*. 2013; 753(2):100-13. doi: 10.1016/j.mrrev.2013.07.002.
30. Buajeeb W, Kraivaphan P, Amornchat C, Triratana T. Frequency of micronucleated exfoliated cells in oral lichen planus. *Mutat Res* 2007; 627(2):191-6. doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.10.010. 91–6.
31. Sommer S, Buraczewska I, Kruszewski M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(4):1-19. doi: 10.3390/ijms21041534
32. GA Wells, B Shea, D O'Connell, J Peterson, V Welch, M Losos, P Tugwell. A Newcastle-Ottawa Scale (NOS); c2021. [http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp#:~:text=The%20Newcastle%2DOttawa%20Scale%20\(NOS,nonrandomised%20studies%20in%20meta%2Danalyses&text=It%20was%20developed%20to%20asses,s,interpretation%20of%20meta%2Danalytic%20results](http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp#:~:text=The%20Newcastle%2DOttawa%20Scale%20(NOS,nonrandomised%20studies%20in%20meta%2Danalyses&text=It%20was%20developed%20to%20asses,s,interpretation%20of%20meta%2Danalytic%20results)
33. Downes MJ, Brennan ML, Williams HC, Dean RS. Development of a critical appraisal tool to assess the quality of cross-sectional studies (AXIS.) *BMJ Open*. 2016;6:e011458. doi:10.1136/bmjopen-2016-011458
34. Celik A, Cavaş T, Ergene-Gözükara S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Mutagenesis*. 2003; 18(5):417-21. doi: 10.1093/mutage/geg022
35. Benites CI, Amado LL, Vianna RA, Martino-Roth Mda G. Micronucleus test on gas station attendants. *Genet Mol Res*. 2006; 5(1):45-54.
36. Hallare AV, Gervasio MK, Gervasio PL, Acacio-Claro PJ. Monitoring genotoxicity among gasoline station attendants and traffic enforcers in the City of Manila using the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells. *Environ Monit Assess*. 2009; 156(1-4):331-41. doi:10.1007/s10661-008-0488-y
37. Martins RA, Gomes GA, Aguiar O Jr, Ribeiro DA. Biomonitoring of oral epithelial cells in petrol station attendants: comparison between buccal mucosa and lateral border of the tongue. *Environ Int*. 2009;35(7):1062-5. doi:10.1016/j.envint.2009.06.001

38. Sellappa S, Sadhanandhan B, Francis A, Vasudevan SG. Evaluation of genotoxicity in petrol station workers in South India using micronucleus assay. *Ind Health*. 2010;48(6):852-6. doi:10.2486/indhealth.ms1055
39. Rekhadevi PV, Mahboob M, Rahman MF, Grover P. Determination of genetic damage and urinary metabolites in fuel filling station attendants. *Environ Mol Mutagen*. 2011; 52(4):310-8. doi:10.1002/em.20622
40. Singaraju M, Singaraju S, Parwani R, Wanjari S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: A micronucleus study. *J Cytol*. 2012 Jan; 29(1):1-5. doi: 10.4103/0970-9371.93208.
41. Rosa JC, Fiegenbaum M, Soledar AL, Claus MS, de Souza Nunes AD, Cardoso VV. Cytogenetic evaluation and the association with polymorphisms of the CPY1A1 and NR1I3 genes in individuals exposed to BTEX. *Environ Monit Assess*. 2013; 185(7):5883-90. doi:10.1007/s10661-012-2992-3
42. Metgud R, Khajuria N, Patel S, Lerra S. Nuclear anomalies in exfoliated buccal epithelial cells of petrol station attendants in Udaipur, Rajasthan. *J Cancer Res Ther*. 2015; 11(4):868-73. doi:10.4103/0973-1482.146058
43. Uppala D, Peela P, Majunidar S, Tadakaniadla MB, Anand GS. Evaluation and Comparison of Micronuclei from Intraoral Smears of Petrol Pump Attendants and Squamous Cell Carcinoma Patients. *Oral and maxillofacial pathology*. 2015; 6(1):550-5. doi: 10.5005/jp-journals-10037-1034
44. Butt F, Cheema K, Nisar N, Qureshi J. Cytogenetic bio-monitoring in fuel station attendants of Gujrat, Pakistan through buccal micronucleus cytome assay. *J Pak Med Assoc*. 2017; 67(7):1039-44.
45. Arul P, Shetty S, Masilamani S, Akshatha C, Naveen Kumar BJ. Evaluation of Micronucleus in Exfoliated Buccal Epithelial Cells Using Liquid-based Cytology Preparation in Petrol Station Workers. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2017; 38(3):273-6. doi:10.4103/ijmpo.ijmpo_26_16
46. Martinez-Valenzuela C, Soto FB, Waliszewski SM, Meza E, Arroyo SG, Martínez LDO, Meraz EA, Caba M. Induced cytotoxic damage by exposure

- to gasoline vapors: a study in Sinaloa, Mexico. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017; 24(1):539-46. doi:10.1007/s11356-016-7821-8
47. Reis Filho AP, Silveira MAD, do Nascimento CB, d'Arce LPG. Integrative study of cell damage and cancer risk in gas station attendants. *Int J Environ Health Res*. 2018; 28(1):1-7. doi:10.1080/09603123.2017.1415305
48. Shaikh A, Barot D, Chandel D. Genotoxic Effects of Exposure to Gasoline Fumes on Petrol Pump Workers. *Int J Occup Environ Med*. 2018; 9(2):79-87. doi:10.15171/ijoem.2018.1159
49. Maciel LA, Feitosa SB, Trolly TS, Sousa AL. Genotoxic effects of occupational exposure among gas station attendants in Santarem, Para, Brazil. *Rev Bras Med Trab*. 2020; 17(2):247-53. doi:10.5327/Z1679443520190382
50. Hadnagy W, Seemayer NH. Cytotoxic and genotoxic effects of extract of particulate emission from a gasoline-powered engine. *Environ Mol Mutagen*. 1988; 12(4):385-96. doi: 10.1002/em.2860120407.
51. Ministério do Trabalho e Previdência (Brasil). NR20. Portaria Nº 1.360 de 9 de dezembro de 2019. Brasília: Ministério do Trabalho e Previdência. Segurança e Saúde no Trabalho com Inflamáveis e Combustíveis; 2019. <https://www.gov.br/trabalho-e-previdencia/pt-br/composicao/orgaos-especificos/secretaria-de-trabalho/inspecao/seguranca-e-saude-no-trabalho/ctpp-nrs/norma-regulamentadora-no-20-nr-2>
52. Folha de São Paulo. Uol online; 2021. <https://www1.folha.uol.com.br/mercado/2021/12/combustivel-carro-reforca-pressao-por-self-service-nas-bombas-de-postos-de-gasolina.shtml>